CHRISTIANO PAVAN MATEUS

AVALIAÇÃO DO COMPOSTO ÓSSEO DE RICINUS GRANULADO E
HIDROXIAPATITA SINTÉTICA NA OSTEointegração EM
COELHOS: ESTUDO HISTOLÓGICO

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação Interunidades em
Bioengenharia - Escola de Engenharia de São
Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto / Instituto de Química de São Carlos da
Universidade de São Paulo como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Ciências

Área de Concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice

São Carlos
2010

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

S243e Mateus, Christiano Pavan
Avaliação do composto ósseo de Ricinus granulado e
hidroxiapatita sintética na osteointegração em
coelhos: estudo histológico / Christiano Pavan Mateus.
-- São Carlos, 2010.

Dissertação (Mestrado) -- Escola de Engenharia de
São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto/Instituto de Química de São Carlos-Universidade
de São Paulo, 2010.

Área : Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice.

1. Hidroxiapatita. 2. Implante ósseo animal. 3.
Composto de Ricinus granulado. 4. Osteointegração. 5.
Histologia I. Título.

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia
EESC / FMRP / IQSC

CHRISTIANO PAVAN MATEUS
MESTRADO EM BIOENGENHARIA

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS
- GRADUAÇÃO INTERUNIDADES BIOENGENHARIA
EESC – FMRP - IQSC DA UNIVERSIDADE DE SÃO
PAULO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
CIÊNCIAS, ÁREA: BIOENGENHARIA.

Data do Julgamento: 09/02/2010

PROF. DR. GILBERTO ORIVALDO
CHIERICE (ORIENTADOR)

Instituto de Química de São Carlos -
USP

Resultado: Aprovado

Assinatura:

PROFA. DRA. ANA MARIA MINARELLI
GASPAR

Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho" - UNESP

Resultado: APROVADO

Assinatura:

PROF. DR. SALVADOR CLARO NETO

Instituto de Química de São Carlos -
USP

Resultado: APROVADO

Assinatura:

DEDICATÓRIA

“Dedico a este trabalho, como um dos ingredientes na formação de um relacionamento com uma base forte, baseado nas qualidades de afeto, compaixão e respeito mútuo. Basear um relacionamento nessas qualidades permite que efetivemos um vínculo profundo e significativo não só com os nossos amigos, conhecidos ou estranhos, praticamente com todos os seres humanos e animais. Essa atitude abre possibilidades e oportunidades ilimitadas para a formação de laços”.

AGRADECIMENTOS

“Agradeço a todos àqueles que direta ou indiretamente estão no contexto dos resultados obtidos; meu mais pleno e arraigado consentimento de agradecimento.

Que Deus vos ilumine”

EPÍGRAFE

“Pense verdadeiramente, e vossos pensamentos irão saciar a fome do mundo”

Horatio Bonar (1808-1889)

RESUMO

MATEUS, C. P. ***Avaliação do Composto de Ricinus Granulado e Hidroxiapatita Sintética na Osteointegração em Coelhos. Estudo Histológico.*** 2010. 63f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia – EESC/FMRP/IQSC da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Com o crescente empenho da Medicina Humana e Veterinária na busca de biomateriais osteointegráveis, o estudo histológico se faz presente na interpretação e apresentação por resultados histomorfológicos das interações dos materiais implantados com o tecido ósseo, possibilitando o conhecimento da velocidade de neoformação óssea. A proposta deste trabalho foi avaliar por estudo histológico a bioatividade do Composto Ósseo de Ricinus Granulado e Hidroxiapatita sintética, implantados no osso ilíaco de coelhos, possibilitando uma melhor compreensão das interações das interfaces osso/implante, frente aos resultados histomorfológicos, sendo interpretados e apresentados por análise descritiva qualitativa. Foram selecionados 30 coelhos, fêmeas, *Oryctolagus cuniculus*, grupo geneticamente modificado - Botucatu, idade adulta de 90 dias, peso entre 2,55 e 3,1 kg divididos em 03 grupos de 10 animais (G1, G2 e G3) sendo que o tempo de pós-operatório foi de G1 com 45 dias, G2 com 70 dias e G3 com 120 dias. Cada animal recebeu 3 defeitos ósseos no osso ilíaco, sendo que dois foram preenchidos pelos biomateriais: Hidroxiapatita sintética e Composto Ósseo de Ricinus Granulado e o terceiro para controle. Após a eutanásia, o osso ilíaco foi removido, identificado e submetido ao procedimento histológico. Concluiu-se através da avaliação histológica a crescente modificação da estrutura inicial para a deposição de nova formação óssea, sobressaindo células gigantes de corpo estranho (em alguns casos), fibroblastos e abundante presença de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. E os materiais foram considerados como biocompatíveis e biologicamente ativos.

Palavras-Chaves: *hidroxiapatita sintética, implante, composto de Ricinus granulado, osteointegração, histologia*

ABSTRACT

MATEUS, C. P. ***Evaluation of the Compound of Granulated Ricinus and Synthetic Hydroxyapatite on the Osseointegration in rabbits. Histological Study.*** 2010. 63f. Dissertation (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia – EESC/FMRP/IQSC da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

With the growing commitment of Human and Veterinary Medicine in the search for biomaterials *osseointegration*, the histological study is present in the interpretation and presentation of results of histomorphologic interactions of materials implanted with bone tissue, providing a speed of bone formation. The proposal was evaluated by histological study the bioactivity of the compound of granulated Ricinus and synthetic hydroxyapatite implanted in rabbit iliac bone, allowing a better understanding of the interactions of bone-implant interface, as compared with histopathologic results, and interpreted and presented by qualitative descriptive analysis. We used 30 female rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, group - Botucatu, adulthood in 90 days, weighing between 2.55 and 3.1 kilograms divided into 3 groups of 10 animals (G1, G2 and G3) and that the length after surgery was 45 days with G1, G2 in 70 days and G3 with 120 days. Each animal received 3 bone defects in the pelvic bone, two of which were completed by biomaterials: synthetic hydroxyapatite and compound of granulated Ricinus and the third for control. After euthanasia, the iliac bone was removed, identified and subjected to histological procedures. It was concluded by the increasing histological modification of the initial structure for the deposition of new bone formation, towering giant cells of foreign body (in some cases), fibroblasts and abundant presence of connective tissue without bone differentiation. And the materials were considered as biocompatible and biologically active.

Keywords: *synthetic hydroxyapatite, implant, compound of granulated Ricinus, osseointegration, histology*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO.....	15
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
3.1. IMPLANTES ÓSSEOS E SUA DEMANDA	16
3.1.1. IMPLANTES COM HIDROXIAPATITA SINTÉTICA	17
3.1.2. IMPLANTES COM COMPOSTO ÓSSEO DE RICINUS.....	19
4. MATERIAL	21
4.1. APRESENTAÇÃO DOS MATERIAIS – IMPLANTES.....	21
4.2. ANIMAIS DO EXPERIMENTO	23
5. MÉTODOS	24
5.1. GRUPOS EXPERIMENTAIS	24
5.2. PROCEDIMENTOS PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO	25
5.3. PROTOCOLO ANESTÉSICO.....	26
5.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	26
5.5. EUTANÁZIA.....	29
5.6. PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO	29
6. RESULTADOS.....	30
6.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	30
6.2. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	30
6.2.1. GRUPO EXPERIMENTAL G1 (45 dias)	30
6.2.1.1. C.O.R. GRANULADO	30
6.2.1.2. HAP-91	33
6.2.1.3. CONTROLE.....	37
6.2.2. GRUPO EXPERIMENTAL G2 (70 dias)	38
6.2.2.1. C.O.R. GRANULADO	38
6.2.2.2. HAP-91	41
6.2.2.3. CONTROLE.....	45
6.2.3. GRUPO EXPERIMENTAL G3 (120 dias)	46
6.2.3.1. C.O.R. GRANULADO	46
6.2.3.2. HAP-91	49
6.2.3.3. CONTROLE.....	54
7. DISCUSSÃO	55
8. CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO	63

1. INTRODUÇÃO

A prática da Medicina Veterinária e Humana é um campo em constante mudança. Os padrões de segurança devem ser seguidos, mas à medida que novas pesquisas e experiências clínicas se desenvolvem, alterações no tratamento e terapia medicamentosa tornam-se necessárias ou apropriadas (PIERMATTEI; FLO, 1999).

O tecido ósseo possui uma alta capacidade de reparação espontânea quando lesionado, repondo depois de um breve intervalo de tempo, toda a porção perdida. No entanto, em alguns casos de defeitos ósseos, com a perda de continuidade, e às vezes extensos, que não tem a capacidade de se repararem espontaneamente, há a necessidade de se utilizar de diversas técnicas cirúrgicas na tentativa de reparação da deficiência óssea (TAGA et al., 1997).

Dentre os diversos processos de reparação tecidual, a reparação óssea se apresenta como um dos mais complexos, sendo foco de interesse nas áreas de pesquisas nos campos da cirurgia ortopédica e bucomaxilofacial (FIGUEIREDO; TAKITA; GOLDENBERG, 1997).

A regeneração de defeitos ósseos com perda de substância resultantes de traumas ou doenças permanece como um desafio terapêutico em ortopedia porque o rápido crescimento de tecido conjuntivo impede ou dificulta a formação de tecido ósseo novo entre os limites da lesão, e a alteração morfofuncional resultante do processo regenerativo pode levar à necessidade de vários procedimentos operatórios para sua adequada correção (FIGUEIREDO; TAKITA; GOLDENBERG 1998; FIGUEIREDO, 2000).

O tratamento cirúrgico qualitativo é o preenchimento do defeito com material que possa promover osteoindução, ou seja, onde estejam presentes fatores que estimulem a sua diferenciação fenotípica em osteoblastos e/ou osteocondução, onde estejam presentes células capazes de formar novo tecido ósseo, conseguindo aderir, crescer e transpor todo o material com a conseqüente osteogênese reparativa (GUTIERRES, 2006).

O osso autólogo é o material mais adequado para atingir esse objetivo. A sua integração aos tecidos vizinhos e sua capacidade de osteogênese têm-se mostrado superiores a numerosos outros materiais utilizados com o mesmo propósito (TSONIS, 2002).

Entretanto, o osso autólogo possui desvantagens importantes como disponibilidade e quantidades limitadas, resistência mecânica inadequada, difícil fixação ao local necessário e ainda a alta morbidade associada ao local doador, que pode incluir a deformidade deste local, além de dor e infecção (IIAN, LADD; MYGIND et al. 2007 apud CARLO, 2007).

Segundo MacNeill et al. (1999) apud Carlo (2007), a meta é desenvolver um material que seja osteocondutor, servindo como suporte para o crescimento de novo osso e que seja reabsorvido a uma velocidade conhecida, sendo assim, gradativamente substituído pelo novo osso em crescimento.

Segundo Rumpel et al. (2006) apud Carlo (2007), um material que seja lentamente reabsorvido, com resistência e elasticidade próximas as do osso e com a capacidade de estimular a regeneração óssea, seria revolucionário no preenchimento de defeitos ósseos e na fabricação de implantes, eliminando as desvantagens dos enxertos autólogos e dos implantes metálicos.

Assim, a procura de um substituto ou implante ósseo ideal precisa ser obtida na quantidade e forma necessárias para preencher o defeito ósseo (ZHENG, 2001).

Segundo Constantino et al. (1991), um implante ideal deve possuir oito características: ser resistente a infecções; forte o suficiente para resistir a algum trauma na região; capaz o suficiente de contornar algum defeito; permanecer estável por longo tempo; produzir o mínimo de respostas inflamatórias; ser radiopaco para visualização em diagnósticos de imagem; não ser alérgico e nem carcinogênico; além disso, ser sintético, o que eliminaria a possibilidade de transmissão de doenças por não ter a participação de doadores no processo.

Como alternativa, tem-se sugerido a aplicação dos biomateriais, seja de preparados ósseos de material natural ou sintético, sendo as propriedades requeridas em um material composto do osso ideal a biocompatibilidade, biodegradabilidade, habilidade de iniciar a osteogênese, composição e propriedades mecânicas similares às daquelas do osso, fazendo imitar o osso natural (MORAES, 2002).

Os biomateriais podem ser definidos como substâncias de origem natural ou sintética, tolerados de forma transitória ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos seres vivos (MORAES, 2002).

Brunski et al.(2000) apud Rodriguez López (2007) relataram que as pesquisas sobre biomateriais objetivam o desenvolvimento de materiais que induzam a cicatrização dos tecidos interfaciais para que seja controlada, guiada e previsível.

O biomaterial, além de cumprir uma função mecânica específica quando implantado, precisa ter propriedades compatíveis com o tecido vivo. Estes materiais podem ser divididos em quatro grupos: metais, cerâmicas, polímeros e compósitos e, de acordo com a resposta biológica induzida no organismo, serem classificados como: biotoleráveis, bioinertes, bioativos e biodegradáveis (RIGO et al.,1999; KAWACHI, 2000).

Segundo Campos (2007), o contato do biomaterial com o tecido vivo através da interface irá influenciar uma resposta celular/tecidual, ativando assim o mecanismo desejado e obtendo resultados precisos.

O desenvolvimento de materiais considerados bioativos e biodegradáveis vem sendo enfatizado, pois, além de substituir tecidos traumatizados, estes materiais também podem propiciar a recuperação do tecido danificado através da atuação em metabolismos intra e extracelulares responsáveis pela reprodução celular e propagação dos tecidos em crescimento (WILLIAMS; BLACK; DOHERTY, 1991).

Williams; Black e Doherty (1991) denominaram que a capacidade de um material interagir com o tecido vivo sem a formação de uma camada fibrosa que o separa do tecido, dá-se o nome de bioatividade. Para que a coexistência biomaterial/hospedeiro não desencadeie reações adversas ou indesejáveis que comprometam o organismo, o material implantado deve ser biocompatível.

Entende-se como biocompatibilidade a capacidade de um material em desempenhar uma aplicação específica com uma resposta apropriada do organismo receptor (WILLIAMS; BLACK; DOHERTY, 1991).

A resposta do tecido ósseo aos materiais inertes e biotoleráveis é a encapsulação do implante com uma camada de tecido fibroso, sendo a espessura dessa camada inversamente proporcional à tolerabilidade do material.

Os biomateriais considerados inertes mais utilizados são alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), zircônia (ZrO_2), dióxido de titânio (TiO_2), ligas de titânio e carbono (DOROZHIGIN; EPPLE, 2002).

Por outro lado, um material bioativo induz uma resposta biológica específica na interface com o tecido vivo, formando uma ligação entre o tecido e o material implantado (osteointegração). O tecido interage com o material depositando-se

diretamente sobre sua superfície sem a intervenção da camada de tecido fibroso. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfato de cálcio, e as cerâmicas do sistema fosfato de cálcio, principalmente, a hidroxiapatita (RIGO, 1999; DOROZHNIKIN; EPPLE, 2002).

O emprego de substâncias químicas que facilitem a reparação óssea, através da osteogênese, osteoindução e osteocondução, é alvo de pesquisas constantes (BORGES, 1998; FRANCO et al., 2001; LEGEROS, 2002).

Analizando e provendo uma visão na geração de um material que pudesse proporcionar um arcabouço na reparação óssea com propriedades estruturais similares às daquelas do osso, biocompatibilidade, absorção, biodegradação, ser bioativo e ainda possuir flexibilidade de formulação, ausência na emissão de vapores tóxicos e baixa temperatura de reação exotérmica; os pesquisadores do Grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, campus de São Carlos, desenvolveram uma resina poliuretana de origem vegetal derivada do óleo de mamona (CHIERICE, 1984).

Segundo Ignácio et al. (1997), a resina poliuretana derivada do óleo de mamona, apresenta na sua formação, um composto com baixo índice de resíduo e grande gama de estruturas físicas, dando margem a variações de resistência, densidade, consistência e porosidade, que permitiriam variações no processo de osteocondução.

Desta forma, este estudo tem como objetivo, verificar a bioatividade dos materiais implantados, possibilitando uma melhor compreensão das interações das interfaces osso/implante.

2. OBJETIVO

1. Analisar, interpretar e apresentar por análise descritiva qualitativa, as interações dos materiais implantados: Composto Ósseo de Ricinus Granulado e Hidroxiapatita sintética com o tecido ósseo pelo uso da técnica histomorfológica; e
2. Demonstrar a eficácia da adaptação dos Procedimentos Pré e Pós-operatório e do Protocolo Anestésico.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. IMPLANTES ÓSSEOS E SUA DEMANDA

O início do desenvolvimento dos implantes e dos biomateriais de forma científica ocorreu no século XX, principalmente no período que inclui as duas Grandes Guerras. Até a metade do século XX, experimentam-se praticamente de todos os materiais conhecidos na confecção de implantes, provocando danos à saúde de muitos pacientes. Em 1947, o Comitê Americano para o Tratamento de Fraturas do Colégio Americano de Cirurgiões recomenda formalmente a utilização dos aços inoxidáveis na confecção dos materiais para osteossíntese.

Surgem as instituições governamentais para o controle dos implantes e dos biomateriais. Em 1976, a Administração de Alimentos e Drogas ("Food and Drug Administration - FDA"), órgão de controle dos Estados Unidos da América, passa a ter autoridade adicional para a regulação do desenvolvimento, dos testes, da produção, da distribuição, do uso dos dispositivos médicos e da autorização para a comercialização. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA é criada em 1998 com atribuições equivalentes.

Para a reconstrução tecidual surgem os biomateriais: os materiais porosos (macro e microporosos), os absorvíveis, os bioativos e os biomiméticos. Utilizam-se esses materiais na obturação de cavidades (neoplasias), no preenchimento das falhas, na substituição tecidual, na reparação ou reconstrução articular e para o remodelamento ósseo. Procura-se desenvolver materiais que permitam a variação de formas e de dimensões, bem como de suas características físicas, químicas, estruturais e superficiais (interface implante-osso) e, principalmente, de suas propriedades mecânicas e biológicas. Apresentam-se a resistência e a rigidez necessárias a cada situação, proporcionando uma rápida consolidação ou uma integração óssea adequada, que permitem a movimentação precoce do paciente.

O mercado mundial de implantes ortopédicos estimou vendas superiores a 10 bilhões de dólares americanos em 2005.

O segmento da reconstrução óssea corresponde a aproximadamente 2,5 bilhões e deve chegar a 14 bilhões de dólares anuais nos próximos 20 anos. Nesse mercado, os biomateriais para a reconstrução óssea constituem o segmento de

maior índice de desenvolvimento e de potencial de mercado, devendo crescer entre 10 e 20% ao ano, nos próximos 5 ou 7 anos¹.

3.1.1. IMPLANTES COM HIDROXIAPATITA SINTÉTICA

O grupo de biomateriais que mais se assemelham à composição do osso é o das cerâmicas de fosfato de cálcio (LEGEROS, 2002), sendo a hidroxiapatita (HAP) a mais difundida delas, com a estrutura química representada pela fórmula $C_{10}(PO^4)_6(OH)_2$. A HAP é produzida sinteticamente desde o início dos anos 70, com o uso clínico desde o início dos anos 80 segundo (SCHMITZ; HOLLINGER; MILAM, 1999).

A HAP é utilizada na correção de defeitos ósseos no homem e em várias espécies animais, com resultados satisfatórios o suficiente para ser indicada como alternativa para a enxertia óssea na clínica cirúrgica, e segundo Franco et al., 2001 e Legeros (2002), a HAP é biocompatível com o tecido ósseo por apresentar a mesma estrutura cristalina como sólido inorgânico. Segundo Ono; Tateshita e Nakajima (2000) é relativamente não absorvível, sendo vantajosa por sua composição uniforme, alta biocompatibilidade, atóxica, não alergênica ou carcinogênica, e sua microestrutura (tamanho dos poros) ser controlável.

A sua estrutura porosa funciona como suporte passivo à neoformação vascular, o que leva a proliferação de fatores indutores da aposição óssea (BORGES, 1998). Segundo Vidigal Júnior e Goisman (1997), a superfície porosa da hidroxiapatita fornece um substrato adicional à proliferação do tecido ósseo; permitindo a junção, proliferação, migração e expressão fenotípica de células ósseas, o que resulta em formação de novo osso, em aposição direta ao biomaterial (LEGEROS, 2002).

¹artigo publicado na Folha de Ortopedia e Traumatologia, São Paulo, nº50, jan/abr 2007 p 7-9.

Borges (1998) avaliaram a eficiência da HAP-91 como substituto ósseo na correção de defeitos na diáfise proximal tibial em 14 cães adultos, nos períodos de 8, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 dias. Usou-se a porosidade de 10 mμ e granulometria entre 75 e 250 mμ permitindo o crescimento de tecido fibrovascular demonstrado por técnica histomorfológica pela coloração de H.E. A característica de biocompatibilidade permitiu o desenvolvimento de tecido conjuntivo mesenquimal com alta celularidade e irrigação. A porosidade utilizada contribuiu para o crescimento fibrovascular e ósseo dentro da estrutura física, que foi observado também na tibia controle e suas características de processo normal de neoformação óssea. Sugerindo que a HAP-91 seja um material substituto na regeneração óssea.

Borges et al.(2000) tiveram como objetivo estudar a HAP-91 como um substituto ósseo em oito cães adultos, sendo implantada na diáfise proximal da tibia direita, e, na tibia contralateral, o controle. As peças foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura aos 8, 30, 60 e 120 dias do período pós-cirúrgico. Os componentes tissulares dos grupos tratados e controle foram similares. A absorção da HAP-91 caracterizou-se pela presença de células multinucleadas, consideradas morfológicamente como osteoclastos. Encontraram-se grânulos de HAP-91 no interior dos macrófagos. A absorção celular dos grânulos concomitante à neoformação óssea adjacente, sugere que o processo de osteointegração da HAP-91 seja análogo ao processo normal de reabsorção e aposição óssea.

Lima et al. (2002) avaliaram o efeito da hidroxiapatita sintética (HAP-91[®]) na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente na região de furca em pré-molar de 5 cães, com avaliação clínica e radiográfica. Estes defeitos foram preenchidos com HAP-91 e avaliados radiograficamente para a observação da ferida cirúrgica com relação a reação inflamatória e sensibilidade dolorosa aos 11, 21 e 71 dias. Na avaliação clínica não foi observada fístula ou abscesso. Foi constatado radiograficamente, estabilidade do material e característica normais do espaço periodontal. A densidade, porosidade e o tamanho das partículas da HAP-91 foram importantes para a implantação do material.

3.1.2. IMPLANTES COM COMPOSTO ÓSSEO DE RICINUS

De acordo com Zheng (2001), a procura de um substituto ou implante ósseo ideal precisa ser obtida na quantidade e forma necessárias para preencher o defeito ósseo.

Carvalho et al. (1997) pesquisaram histometricamente se a presença dos grânulos derivados do óleo de mamona (*Ricinus communis*), quando implantados imediatamente após a exodontia dos incisivos de ratos, eram capazes de interferir no processo de cicatrização alveolar. A neoformação óssea paralelamente à diminuição do volume de tecido conjuntivo foi quantificada pelo método histométrico após 1, 2, 3 e 6 semanas da exodontia. Observaram que a presença dos grânulos derivados do óleo de mamona no terço cervical causou um pequeno, mas significativo atraso na neoformação óssea (9%-20%) nos terços médio e apical da segunda semana de avaliação.

Segundo Frascino (1998), com o uso de análises macroscópica, radiológica e histológica, foi analisado o comportamento do implante de resina poliuretana de mamona na reparação óssea em calotas cranianas de coelho, nos períodos de 2, 6, 12, 18 e 24 semanas. Os resultados mostraram que ocorreram osteogênese e osteocondução com a neoformação óssea, havendo satisfatoriamente o reparo das falhas produzidas após 6 semanas. Foi observado osteopromoção sem atividade fagocitária e ausência de fenômenos tóxicos ou reacionais.

De acordo com a pesquisa de Yunes (1999) sobre a infiltração marginal em retrobturações utilizando amálgama, cone de guta-percha associado ao polímero derivado do óleo de mamona ou cianoacrilato de etila ou ao cimento N-Rickert; demonstrou que o cone de guta-percha associado ao cianoacrilato de etila e o polímero derivado do óleo de mamona, apresentaram resultados semelhantes. Onde pode-se concluir que o polímero derivado do óleo de mamona poderá se utilizado como material nas retrobturações.

Os estudos de Konig Junior et al. (1999) avaliaram a biocompatibilidade da resina derivada do óleo de mamona inserida no osso alveolar de cães após exodontia de pré-molar. A resina derivada do óleo de mamona foi substituída por matriz osteóide e demais tecidos ósseos após a permanência de 90 dias no alvéolo dental, não havendo presença de reação imune ou inflamatória.

Barros et al. (2001) analisaram por meio de cortes histológicos não descalcificados e analisador de imagem, a resposta biológica óssea e o potencial de osteointegração do polímero derivado do óleo de mamona acrescido ou não de fosfato de cálcio. Após 8 semanas, observaram na interface osso cortical/implante um íntimo contato entre o material e a matriz mineralizada formada, não havendo presença de células inflamatórias ou multinucleadas, e com um grau de osteointegração variando de 72,8% a 90,6%. Os resultados mostraram um boa biocompatibilidade do material testado, e com uma maior porcentagem de osteointegração quando acrescido de fosfato de cálcio.

O estudo de um floculado a base de derivado do óleo de mamona, implantado em alvéolos dentais de ratos, foi estudado por Calixto et al. (2001). Testaram a biocompatibilidade por meio de análise histométrica (contagem diferencial de pontos) no terço apical, onde mostrou um atraso de 13% a 20% no reparo alveolar dos ratos implantados. Observou-se uma menor neoformação óssea associada a maiores volumes percentual de tecido conjuntivo e de remanescentes de coágulo sanguíneo. Verificou, com isto, a biocompatibilidade e a capacidade de osteointegração direta.

Leonel et al. (2004) analisaram a ação do polímero derivado do óleo de mamona durante a neoformação óssea. Para isto, um grupo de 45 ratos foi utilizado, criando um defeito ósseo na região do arco zigomático, sendo todos estes defeitos preenchidos posteriormente com o polímero. Decorridos 15, 30, 60, 90 e 120 dias, os animais foram eutanasiados para o processamento histológico. Pôde-se concluir que o material estudado auxiliou no processo regenerativo, atuando como agente osteocondutor.

4. MATERIAL

4.1. APRESENTAÇÃO DOS MATERIAIS – IMPLANTES

✓ C.O.R. – Composto Ósseo de Ricinus granulado (Figura 1). Apresentação comercial com 5g x 450 µm de granulometria. É um polímero vegetal osteointegrável derivado do óleo de mamona composto de pré-polímero e poliol na concentração de 1:0,7 e carbonato de cálcio (CaCO_3) na concentração de 20 %. É autorizado para uso médico pelo registro ANVISA: nº 1.03.056.9.0009 . De acordo com o fabricante, Poliquil Araraquara Polímeros Químicos Ltda., o C.O.R. granulado é um biomaterial usado na reestruturação óssea, indicado no reparo neurocirúrgico, reconstrução óssea, fixação de próteses, e como preenchedor de espaço ósseo na cirurgia ortopédica e odontológica. Para ser empregado, os grânulos devem ser adicionados a solução salina de NaCl (0,9%), sangue ou osso esponjoso.

Figura 1 – Apresentação do Composto Ósseo de Ricinus Granulado

✓ HAP-91 – Hidroxiapatita sintética (Figura 2). Apresentação comercial com 0,5g x 10 mesh de granulometria (JHS Laboratório Químico Ltda, Sabará, MG) que é autorizado pelo registro ANVISA nº 1.04.057.2.0001 com o nº de lote: 0705193-IM. É um compósito de hidroxiapatita porosa, sendo uma biocerâmica fosfocálcica de suporte para a regeneração do tecido ósseo. É indicada no preenchimento de alvéolos após extração, regularização do rebordo alveolar, e deformidades ósseas na cirurgia ortopédica e odontológica.

Figura 2 – Apresentação da Hidroxiapatita sintética

4.2. ANIMAIS DO EXPERIMENTO

Foram selecionados 30 coelhos, fêmeas, *Oryctolagus cuniculus*, grupo geneticamente modificado - Botucatu, provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu com média de 90 dias e 2,55 a 3,1 kg.

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado com o protocolo nº 130/2007 pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (ANEXO A).

5. MÉTODOS

5.1. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os coelhos foram separados aleatoriamente em três grupos com dez animais em cada um. Mantidos em um galpão semifechado, alojados em gaiolas individuais de arame galvanizado 50x50x50 cm a uma altura de 80 cm do solo, com ração padronizada Natural Coelhos^{N.C.} (Purina[®])^a, capim Napier (*Pennisetum purpureum*) e água *ad libitum* (Figura 3).

Os coelhos foram identificados em grupos conforme o período de observação pós-operatória e eutanásia, e, à utilização dos materiais implantados e controle (Tabela 1).

Figura 3 - Galpão semifechado, coelhos alojados em gaiolas individuais

Tabela 1 - Distribuição dos grupos nos períodos de observação pós-operatória em dias com os materiais implantados e o controle

GRUPOS	PERÍODO EM DIAS	MATERIAIS	
G1	45	HAP-91 / C.O.R. GRANULADO	CONTROLE
G2	70	HAP-91 / C.O.R. GRANULADO	CONTROLE
G3	120	HAP-91 / C.O.R. GRANULADO	CONTROLE

5.2. PROCEDIMENTOS PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO

No procedimento pré-operatório os coelhos tiveram jejum alimentar de oito horas precedendo a anestesia. Fez-se aleatoriamente a tricotomia na região a ser operada. Materiais e campos cirúrgicos foram autoclavados na Autoclave Stermax.

Foi instaurada como analgesia preemptiva Sulfato de morfina^b na dose de 1,0 mg.kg⁻¹ por via intramuscular a cada 6 horas/ 24 horas e o uso de Cloridrato de Tramadol^c na dose de 2,0 mg.kg⁻¹ por via intramuscular a cada 8 horas/72 horas. Como antibioticoterapia, instaurou-se o uso de enrofloxacin^d na dose de 1,0 mg.kg⁻¹ a cada 24 horas/ 7 dias.

Usou-se degermante Digluconato de Clorexidina a 4%^e nas feridas cirúrgicas. No décimo dia as suturas foram removidas.

5.3. PROTOCOLO ANESTÉSICO

Optou-se pelo uso do plano anestésico dissociativo dos agentes Xilazina e Tiletamina-zolazepam por potencializar adequado relaxamento muscular e analgesia, conferindo segurança no período trans e pós-cirúrgico. De acordo com Popilskis et al. (1991) empregou-se o uso de Xilazina^f na dose de 5 mg.kg⁻¹ e Tiletamina-zolazepam^g na dose de 15 mg.kg⁻¹ por via intramuscular na mesma seringa.

5.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os animais foram posicionados em decúbito lateral sob colchonete térmico com a região sacro-ilíaca tricotomizada aleatoriamente. Anti-sepsia com degermante Digluconato de Clorexidina a 4% e a colocação de campos cirúrgicos fenestrados.

A técnica operatória empregada (Figura 4) baseou-se na técnica descrita por Schena (1983), que seguiu nos tempos cirúrgicos:

- Abordagem cirúrgica crânio-dorsal da asa ilíaca incisando pele e subcutâneo (A);
- Secção na origem fascial do músculo glúteo médio (B), elevando e retraindo-o ventralmente (C¹), proporcionando acesso através da separação muscular e elevação subperiosteal (C²);
- Com acesso ao corpo ilíaco pelo afastador Weitlaner (D), colocou-se o gabarito (E);
- Uma trefina de 4 mm de diâmetro externo acoplada a um micromotor de baixa rotação (F) no gabinete odontológico (G), fez-se os orifícios no osso ilíaco transpassando-os a uma profundidade de 3 mm sob irrigação constante com solução fisiológica a 0,9% ^h Dois orifícios foram preenchidos pelos biomateriais: hidroxiapatita sintética e C.O.R. granulado, e o outro para controle (H). Usou-se um funil torneado (F) para preenchê-los;

- Na taça de borracha (F) foi adicionada uma quantidade suficiente de solução fisiológica a 0,9% ao material C.O.R. granulado para a formação de uma pasta homogênea,
- Após os preenchimentos, iniciou-se o plano de sutura em padrão contínuo do músculo glúteo médio com fio categut 3-0ⁱ. A pele e tecido subcutâneo foram suturados em padrão simples interrompido com fio mononylon 4-0^j.

Figura 4. Microfotografias ilustrando o procedimento cirúrgico no osso ilíaco: A) Abordagem cirúrgica crânio-dorsal da asa ilíaca incisando pele e subcutâneo; B) Secção na origem fascial do músculo glúteo médio; C1) elevando e retraindo-o ventralmente; C2) acesso através da separação muscular e elevação subperiostal; D) acesso ao corpo ilíaco pelo afastador Weitlaner; E) gabarito; F) materiais utilizados no ato cirúrgico; G) gabinete odontológico; H) preenchimento dos orifícios com os materiais: HAP-91 (seta branca), Controle (seta amarela) e C.O.R. granulado (seta azul).

5.5. EUTANÁSIA

Os animais foram submetidos ao mesmo protocolo anestésico, estando-os em plano anestésico profundo aplicou-se cloreto de potássio^k até a supressão dos batimentos cardíacos. As peças cirúrgicas foram removidas e direcionadas ao procedimento histológico.

5.6. PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO

Após as peças cirúrgicas serem removidas, foram colocadas separadamente e identificadas pelos grupos experimentais em recipientes com formol neutro a 10% e sendo encaminhadas ao Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP.

Em seguida, foram lavadas em água corrente por 24 horas e descalcificadas em solução de EDTA (ácido etilenodiamino tetracético) dissódico. Após a descalcificação por um período de 10 semanas, sendo feita uma troca 1x/semana, as peças foram novamente lavadas em água corrente durante 24 horas e desidratadas em álcool numa série de GL 70, 80, 90, 95, 100-I, 100-II e 100-III e diafanizadas com Álcool-Xilol, e a na sequência o uso de Xilol 1 e Xilol 2 para a retirada de todo o álcool, possibilitando o preenchimento das lacunas desidratadas com a inclusão da parafina.

As peças foram seccionadas em cortes semi-seriados com 6 µm de espessura no sentido longitudinal em micrótomo rotativo, montadas em lâminas de vidro, e, coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina (H.E.).

Foram analisadas e fotografadas no Fotomicroscópio (Zeiss), a fim de se observarem as interações das interfaces osso/implante para análise qualitativa do tecido ósseo neoformado na área córtico-esponjosa.

6. RESULTADOS

6.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA

Após os procedimentos pré e pós-operatórios, e estando em suas gaiolas, os animais se mantiveram tranquilos, não ocasionando perda de peso, e mantendo as feridas cirúrgicas íntegras.

6.2. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Na avaliação histológica, os resultados histomorfológicos foram interpretados e apresentados por análise descritiva qualitativa, em função das ocorrências verificadas nos diferentes grupos experimentais nos três períodos pós-operatórios, avaliando-se a regeneração tecidual com base na neoformação óssea.

6.2.1. GRUPO EXPERIMENTAL G1 (45 dias)

6.2.1.1. C.O.R. GRANULADO

Em todos os animais do grupo, observaram-se extensas áreas da loja cirúrgica ocupadas pelo material inserido. Em algumas lâminas, entre os fragmentos do material, observou-se a presença de delgadas espículas ósseas neoformadas ocupando discretas áreas (Figura 5).

Figura 5 – Grupo Experimental G1 - C.O.R. granulado (45 dias). Evidenciando extensas áreas ocupadas pelo material ao lado de pequenas espículas ósseas neoformadas (setas). H.E., original 25x.

No mesmo grupo, nota-se maior quantidade de tecido ósseo neoformado preenchendo os espaços entre os fragmentos do material (Figura 6).

Figura 6 – Grupo Experimental G1 - C.O.R. granulado (45 dias). Mostrando trabéculas ósseas em maior quantidade (setas) e extensas áreas ocupadas pelo material. H.E., original 25x.

Além de tecido ósseo neoformado, evidencia-se em alguns pontos, a presença de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 7).

Figura 7 – Grupo Experimental G1 - C.O.R. granulado (45 dias). Mostrando o material e a presença de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (setas) em alguns pontos. H.E., original 25x.

6.2.1.2. HAP-91

Em alguns animais deste grupo, nota-se a permanência do material inserido ocupando extensas áreas da loja cirúrgica. Envolvendo o material observa-se tecido ósseo neoformado (Figura 8).

Figura 8 – Grupo Experimental G1 – HAP-91 (45 dias). Evidenciando o material ocupando extensas áreas da loja cirúrgica (setas). H.E., original 25x.

Em outras lâminas, pode ser evidenciado o material envolvido por tecido conjuntivo sem diferenciação óssea, apresentando fibras colágenas e discreto número de fibroblastos (Figura 9) além de áreas com tecido ósseo neoformado.

Figura 9 – Grupo Experimental G1 - HAP-91 (45 dias). Tecido conjuntivo com discreto número de fibroblastos (setas). H.E., original 63x.

Num dos animais do grupo, o material ocupa extensas áreas, apresentando nas proximidades, tecido ósseo neoformado ao lado de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 10). Neste mesmo animal, evidencia-se próximo ao material, a presença de células multinucleadas (Figura 11).

Figura 10 – Grupo Experimental G1 - HAP-91 (45 dias). Material ocupando extensas áreas ao lado de tecido ósseo neoformado e tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (seta). H.E., original 25x.

Figura 11 – Grupo Experimental G1 - HAP-91 (45 dias). Mesmo animal da figura anterior evidenciando a presença de células multinucleadas (setas). H.E., original 63x.

6.2.1.3. CONTROLE

A loja cirúrgica em alguns animais encontra-se ocupada por delgadas trabéculas ósseas neoformadas (Figura 12), permanecendo amplo espaço intertrabecular.

Figura 12 - Grupo Experimental G1 - Controle (45 dias). Loja cirúrgica ocupada por trabéculas ósseas neoformadas (setas). H.E., original 25x.

6.2.2. GRUPO EXPERIMENTAL G2 (70 dias)

6.2.2.1. C.O.R. GRANULADO

Em um dos animais deste grupo, pode ser evidenciada extensa área da loja cirúrgica ocupada pelo material empregado (Figura 13), notando-se nas proximidades, tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 14) com moderado número de fibroblastos.

Figura 13 - Grupo Experimental G2 - C.O.R. granulado (70 dias). Loja cirúrgica evidenciando extensas áreas ocupadas pelo material utilizado. H.E., original 25x

Figura 14 – Grupo Experimental G2 - C.O.R. granuloso (70 dias). Mesma loja cirúrgica da figura anterior mostrando áreas com tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (seta). H.E., original 63x.

Nas demais lâminas observam-se a presença de menor quantidade do material, mostrando nas proximidades, tecido ósseo neoformado (Figuras 15 e 16).

Figura 15 – Grupo Experimental G2 - C.O.R. granulado (70 dias). Loja cirúrgica apresentando menor quantidade do material e presença de trabéculas ósseas, geralmente isoladas (setas). H.E., original 25x.

Figura 16 – Grupo Experimental G2 - C.O.R. granulado (70 dias). Loja cirúrgica mostrando trabéculas ósseas mais desenvolvidas (setas) e menor quantidade do material. H.E., original 25x.

6.2.2.2. HAP-91

Em algumas lojas cirúrgicas, evidenciam-se extensas áreas ocupadas pelo material, notando-se nas proximidades, delgadas trabéculas ósseas neoformadas (Figura 17).

Figura 17 - Grupo Experimental G2 - HAP-91(70 dias). Loja cirúrgica mostrando extensas áreas ocupadas pelo material e presença de delgadas trabéculas ósseas (setas). H.E., original 25x.

Em outras lâminas, nota-se a permanência de pequena quantidade do material ao lado de trabéculas ósseas neoformadas (Figura 18).

Figura 18 – Grupo Experimental G2 - HAP-91 (70 dias). Loja cirúrgica com pequena quantidade do material (setas) ao lado de trabéculas ósseas. H.E., original 25x.

Junto ao material, podem ser observadas discretas áreas ocupadas por tecido conjuntivo com pequeno número de fibroblastos (Figura 19).

Figura 19 - Grupo Experimental G2 - HAP-91 (70 dias). Mostrando a presença de tecido conjuntivo neoformado no interior do material. H.E., original 63x.

Em uma das lâminas, nota-se adjacente ao material, discretas áreas com presença de macrófagos e linfócitos (Figura 20).

Figura 20 – Grupo Experimental G2 - HAP-91 (70 dias). Evidenciando junto ao material, discretas áreas ocupadas por macrófagos e linfócitos (setas). H.E., original 160x.

6.2.2.3. CONTROLE

Todas as lojas cirúrgicas encontram-se ocupadas por trabéculas ósseas delgadas (Figura 21), permanecendo extensas áreas com tecido conjuntivo sem diferenciação óssea.

Figura 21 – Grupo Experimental G2 - Controle (70 dias). Trabéculas ósseas delgadas (setas) preenchendo a loja cirúrgica. H.E., original 25x.

6.2.3. GRUPO EXPERIMENTAL G3 (120 dias)

6.2.3.1. C.O.R. GRANULADO

Em uma das lojas cirúrgicas, evidencia-se a permanência de grande quantidade do material utilizado, notando-se discretas áreas ocupadas por tecido ósseo (Figura 22).

Figura 22 - Grupo Experimental G3 - C.O.R. granulado (120 dias). Loja cirúrgica ocupada por grande quantidade do material ao lado de trabéculas ósseas isoladas (setas). H.E., original 25x.

Nas demais lâminas, nota-se a presença de menor quantidade do material e presença de trabéculas ósseas neoformadas em contato com o polímero (Figuras 23 e 24).

Figura 23 – Grupo Experimental G3 - C.O.R. granulado (120 dias). Evidenciando moderada quantidade do material ao lado de trabéculas ósseas espessas (setas). H.E., original 25x.

Figura 24 – Grupo Experimental G3 - C.O.R. granuloso (120 dias). Permanência de moderada quantidade do material (setas) e presença de trabéculas ósseas menos organizadas. H.E., original 25x.

6.2.3.2. HAP-91

Em uma das lâminas, observa-se a presença do material em pequena quantidade, notando-se nas proximidades, trabéculas ósseas ao lado de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 25).

Figura 25 - Grupo Experimental G3 - HAP-91 (120 dias). Loja cirúrgica mostrando pequena quantidade do material (seta) e presença de trabéculas ósseas e tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. H.E., original 25x.

Em outra lâmina, nota-se a permanência de resíduo do material e tecido ósseo neoformado em pequena quantidade (Figura 26).

Figura 26 – Grupo Experimental G3 - HAP-91 (120 dias). Mostrando resíduo do material (seta) e presença de tecido ósseo neoformado em pequena quantidade. H.E., original 63x.

Nas demais lâminas, praticamente evidenciam-se a ausência do material ao lado de trabéculas ósseas pouco desenvolvidas (Figura 27).

Figura 27 – Grupo Experimental G3 - HAP-91 (120 dias). Loja cirúrgica mostrando praticamente a ausência do material (seta) ao lado de trabéculas ósseas. H.E., original 25x.

Em outras lâminas, a loja cirúrgica encontra-se ocupada por tecido ósseo pouco organizado ao lado de grande quantidade de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 28).

Figura 28 - Grupo Experimental G3 - HAP-91 (120 dias). Loja cirúrgica com trabéculas ósseas pouco organizadas e extensas áreas com tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (setas). H.E., original 25x.

6.2.3.3. CONTROLE

A loja cirúrgica encontra-se totalmente preenchida por tecido ósseo bem desenvolvido (Figura 29).

Figura 29 – Grupo Experimental G3 - Controle (120 dias). Todas as lojas cirúrgicas são ocupadas por trabéculas ósseas bem desenvolvidas. H.E., original 25x.

7. DISCUSSÃO

Segundo Legeros (2002), o emprego de substâncias químicas que facilitem a reparação óssea, através da osteogênese, osteoindução e osteocondução, é alvo de pesquisas constantes.

A avaliação histológica validou sua aplicação ao ser utilizada na avaliação da biocompatibilidade dos materiais implantados, sendo que a maioria dos protocolos se baseia na determinação qualitativa de um relativo número de tipos celulares e a quantidade de componentes da matriz extracelular ao redor dos implantes (RIPAMONTI; DUNEAS, 1996).

A biocompatibilidade e a capacidade de osteointegração não são propriedades exclusivas da composição química dos biomateriais, mas dependem também das características físicas como tamanho, forma e quantidade de partículas, rugosidade superficial, existência e tamanho de poros (FUROSAWA et al. 1998).

No presente estudo, a avaliação histológica se atribuiu as interações das interfaces osso/implante, por meio de análise descritiva, sendo qualitativa e quantitativa.

O uso de um material que seja lentamente reabsorvido, com resistência e elasticidade próximas as de um osso, e com a capacidade de estimular a regeneração óssea, seria revolucionário no preenchimento de defeitos ósseos e na fabricação de implantes, eliminando as desvantagens dos enxertos autólogos e dos implantes metálicos (RUMPEL et al. 2006).

O presente estudo mostra que o material Composto Ósseo de Ricinus Granulado nos três grupos experimentais apresenta-se envolto por um trabeculado ósseo em desenvolvimento, o qual reporta a sua forma física possuir uma área com um alto número de grânulos, favorecendo a migração celular e elaboração de uma matriz óssea.

Deve-se considerar que a região óssea eleita, osso ilíaco, na confecção dos defeitos ósseos, é utilizada como região doadora para enxertia óssea. Por isto, a implantação dos materiais nessa região, se justifica porque os resultados histomorfológicos podem apresentar dados semelhantes aos obtidos com preenchimento feitos com ossos autólogos, com a vantagem desses materiais apresentarem maior disponibilidade e facilidade cirúrgica.

No presente estudo, os períodos de observação pós-operatórios foram estrategicamente selecionados por períodos mais longos para análise na expectativa de uma evolução osteointegrável, com ênfase no conhecimento da velocidade de metabolização e reabsorção dos materiais.

Os períodos pré-determinados no estudo, foram a base das definições no fator da bioatividade a longo prazo.

Estudos realizados por Albrektsson e Jacobsson (1987) apud Campos (2007), apresentaram uma nova definição para a osteointegração que passou a ser o contato direto entre a superfície do implante e osso, sob observação do microscópio óptico.

8. CONCLUSÕES

- ✓ O protocolo anestésico empregado proporcionou um excelente tempo hábil no procedimento cirúrgico, favorecendo a segurança da técnica; e
- ✓ O uso dos fármacos na analgesia preemptiva e sucessiva potencializou o efeito analgésico, corroborando na avaliação clínica dos animais; e
- ✓ Houve uma crescente modificação da estrutura inicial nos dois implantados e no controle para a deposição de nova formação óssea, sobressaindo fibroblastos e abundante presença de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea; e
- ✓ Comparando qualitativamente os resultados histomorfológicos observou-se a presença de células multinucleadas nas lâminas com o material hidroxiapatita sintética; e
- ✓ Os dois materiais: Composto Ósseo de Ricinus Granulado e Hidroxiapatita sintética sofreram uma reabsorção e metabolização lenta e gradual; fazendo-se com isto, um critério de escolha do material a ser implantado nas áreas clínico-cirúrgico-ortopédicas e buco-maxilo-facial, onde seja necessária uma reposição de volume nas perdas ósseas como nas articulações coxo-femorais, nas artroplastias de quadril, união de vértebras, preenchimento de defeitos segmentares, para comprovar sua bioatividade na osteointegração e eficácia como biomaterial.

REFERÊNCIAS

BARROS, V. M. R. et al. Osseointegração do implante de poliuretano em fêmur de coelhos. In: REUNIÃO DA SBPqO, 18., 2001, Águas de Lindóia. **Resumos ...**, v. 18, p. 41, 2001 (152).

BORGES, A. P. B. **O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia de cães: estudo clínico cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodisperção**. 1998. 111f. Tese (Doutorado)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

BORGES et al. Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia em cão: aspectos à microscopia eletrônica de transmissão. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.52, n. 6, p.616-620, 2000.

CONSTANTINO, P. D. et al. Hydroxyapatite cement. I. Basic chemistry and histologic properties. **Archives of Otolaryngology Head Neck Surgery**, Chicago v.117, n.4, p.379-384, 1991.

CHIERICE, G. O. **Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais baseados em poliuretanas derivadas de óleo de mamona**. SNM – PADCT II; 1994.

CARVALHO, T. L. L. et al. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants. **International Journal Oral Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, v. 26, n. 2, p. 149-52, 1997.

CALIXTO, R. F. E. et al. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. **Pesquisa Odontologia Brasileira**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 257-62, 2001.

CAMPOS, L. E. C. **Análise físico-química e biológica de duas superfícies de implantes osteointegráveis e uso odontológico**. 2007. 138f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Veiga de Almeida, Rio de Janeiro, 2007.

CARLO, E. C. **Compósitos de hidroxiapatita e polihidroxibutirato em defeitos ósseos experimentais na ulna de coelhos**. 2007. 58f. Dissertação (Magister Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

DOROZHIKIN, S. V.; EPPLE, M. Biological and medical significance of calcium phosphates. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 41, p. 3130-3146, 2002.

FIGUEIREDO, A.S.; TAKITA, L.C.; GOLDENBERG, S. Comparação entre a hidroxiapatita porosa de coral e o enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.12, n. 2, p. 84-88, 1997.

FIGUEIREDO, A. S.; TAKITA, L. C.; GOLDENBERG, S. Comparação entre a hidroxiapatita porosa de coral e o enxerto ósseo autólogo em coelhos. **Acta Cirurgia Brasileira**, São Paulo, v.12, n.2, p. 84-88, 1998.

FIGUEIREDO, A. S. **Estudo morfológico comparativo entre implantes de osso bovino desvitalizado, hidroxiapatita de coral, poliuretana de mamona e enxerto ósseo bovino autógeno, em coelhos**. 2000. 75f. Dissertação (Mestrado em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental), Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2000.

FRASCINO, L. F. **Implante de resina poliuretana vegetal em cranioplastia. Estudo experimental em coelhos**. São José do Rio Preto, 1998. 108f., Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, 1998.

FRANCO, K. L.; BORGES, A. P. B.; VILÓRIA, M. I. V. et al. Hidroxiapatita sintética pura, hidroxiapatita associada ao colágeno e hidroxiapatita sintética associada ao lipossoma como substitutos ósseos em defeitos provocados na tíbia de cães: aspectos da osteointegração à microscopia de luz transmitida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, p.431-436, 2001.

FURUSAWA, T. et al. Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. **International Journal Oral Maxillofacial Implants**, Lambard, v. 13, p. 672-676, 1998.

GUTIERRES, M. et al. Substitutos ósseos. Conceitos Gerais e Estado Atual. **Arquivo Médico da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**, Portugal, v. 19, n. 4, p. 153-162. 2006.

IGNÁCIO; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H. et al. – Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio. Estudo experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 1997, 32:815-821.

KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, São Paulo, v.23, n. 4, p. 518-522, 2000.

KONIG JUNIOR, B.; FORGER, S. E.; MASCARO, M. B., BECK, T. J. Biocompatibility of the polyurethane resin of the castor bean inserted into the alveolar bone of the dog. **Anat. Anz.**, v. 181, n. 6, p. 581-4, 1999.

LEGEROS, R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v.395, p.81-98, 2002.

LEONEL, E. C. F. et al. A ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea. **Acta Cirurgia Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 123-34, 2004.

LIMA, T. B. F. O efeito da hidroxiapatita sintética (HAP-91[®]) na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente na região de furca em dentes de cães. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS. **Anais ...** Brasília: s.n., 2002.

MORAES, P.C. **Biocompatibilidade e comportamento do cimento de fosfato de cálcio, reforçado com diferentes tipos de fibras, implantado no rádio de coelhos**. 2002. 73f.(Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

ONO, I.; TATESHITA, T.; NAKAJIMA, T. Evaluation of a high density polyethylene fixing system for hydroxyapatite ceramic implants. **Biomaterials**, v.21, p.143-151, 2000.

PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L. Notas. In: _____. **Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1999. p. ix.

POPILSKIS, S. J. et al. Comparison of xylazine with tiletamine-zolazepan (Telazol®) and xylazine-Ketamine anesthesia in rabbits. **Laboratory Animal of Science**, Memphis, 41,51-53. 1991.

RIPAMONTI, U.; DUNEAS, N. Tissue engineering of bone by osteoinductive biomaterials. **Materials Research Society Bulletin.**, v.21, p. 36- 39, 1996.

RIGO, E.C.S. et al. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista brasileira de Engenharia Biomédica**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1/2, p.21-29, 1999.

RUMPEL, L. E. et al. The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo. **Folia Morphologica**, Prague, v.65, n.1, p. 43-48, 2006.

RODRIGUES LOPES, J. C. **Avaliação histomorfométrica do percentual de osseointegração ao redor de implantes e titânio recobertos por hidroxiapatita por meio de dois métodos de secção histológica**. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Duque de Caxias, 2007.

SCHENA, C.J. The procurement of cancellous bone for grafting in small animal orthopedic surgery: a review of instrumentation, technique and pathophysiology. **Journal American Animal Hospital Association**, Golden, v.19, p.695-701, 1983.

SCHMITZ, J.P.; HOLLINGER, J.O.; MILAM, S.B. Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: a critical review. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, v.57, p.1122-1126, 1999.

TAGA, R. et al. Reparo de defeito ósseo perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. **Revista Brasileira Implantodontia**, Rio de Janeiro, v.3, n.1, p. 13-20, 1997.

TSONIS, P. A. Regenerative biology: the emerging field of tissue repair and restoration. **Differentiation**, London, v.70, n.8, p. 397-409, 2002.

VIDIGAL Jr., G.M.; GOISMAN, M. Osseointegração x biointegração: uma análise crítica. **Revista Brasileira de Odontologia**. v.4, p.54, 1997.

WILLIAMS, D. F.; BLACK, J.; DOHERTY, P.J. (Ed.). Second consensus conference on definitions in biomaterials. In: **BIOMATERIALS – TISSUE INTERFACES:**

PROCEEDINGS OF THE NINTH EUROPEAN CONFERENCE ON BIOMATERIALS, 9, 1991, Chester, UK . **Proceedings of the ...**Amsterdam :Elsevier, 1992. p. 525-533. (Advances in Biomaterials, v. 10) Revista Brasileira de Otorrinolaringologia.

YUNES, J. R. M. **Avaliação in vitro da infiltração marginal em retrobturações utilizando diferentes materiais obturadores.** Ribeirão Preto, 1999. 133f., Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1999.

ZHENG, L.; WANG, Q. The current situation and future of extracellular matrix materials bone tissue engineering. **Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi**, Beijing, v.18, n.3, p. 470-474, 2001.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a. Natural Coelhos - Purina[®] - SIAL TECNOAGRO – Ilha Solteira, SP.
- b. Cloridrato de tramadol 50mg/ml – TEUTO – Ativa Comercial Hospitalar Ltda. Ribeirão Preto, SP.
- c. Sulfato de morfina 1mg/ml – GERMED - Ativa Comercial Hospitalar Ltda. Ribeirão Preto, SP. Brasil.
- d. Baytril 5%[®] - BAYER do Brasil.
- e. Riohex 4% - Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda. São José do Rio Preto, SP.
- f. Cloridrato de xilazina - Virbaxyl – VIRBAC do Brasil.
- g. Zoletil 50[®] - VIRBAC do Brasil. São Paulo, Brasil.
- h. Solução isotônica Cloreto de sódio a 0,9% ‘ - Glicolabor Indústria Farmacêutica Ltda. Ribeirão Preto, SP.
- i. Catugut 3-0 - Brasuture - Cremer S.A. São Paulo, Brasil.
- j. Nylon 4-0 - Brasuture – Cremer S.A. São Paulo, Brasil.
- k. Cloreto de potássio 19,1% - Samtec Biotecnologia – S.P.

ANEXO A – Certificado da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
— Comissão de Ética em Experimentação Animal —

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para Uso de Animais em Experimentação nº 130/2007, sobre o projeto intitulado “*Avaliação da bioatividade do polímero de mamona (Alguiex) e hidroxiapatita em coelhos*”, sob a responsabilidade do **Professor Doutor Gilberto Orivaldo Chierici**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CETEA) em reunião de **03 de dezembro de 2007**.

(We certify that the protocol nº 130/2007, about “*Evaluation of the castor oil plant polymer (Alguiex) and of the hydroxyapatite bioactivity in rabbits*”, agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the COLLEGE OF MEDICINE OF RIBEIRÃO PRETO OF THE UNIVERSITY OF SÃO PAULO – ETHICAL COMMISSION OF ETHICS IN ANIMAL RESEARCH (CETEA) in 12/03/2007 meeting).

Ribeirão Preto, 05 de dezembro de 2007.

Profª. Dra. CLÁUDIA MARIA LEITE MAFFEI
Presidente, em exercício, da Comissão de Ética
em Experimentação Animal